



Maria Margarida Gantes Padrão

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Ana Maria Matos e do Professor Doutor Saúl Pereira da Costa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2018



Imagem da capa retirada de <http://isic.net.br/artigo-40>

Maria Margarida Gantes Padrão

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Ana Maria Matos e do Professor Doutor Saúl Pereira da Costa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2018



Eu, Maria Margarida Gantes Padrão, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011154686, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Avaliação Toxicológica de um Produto Cosmético” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de Julho de 2018.

Maria Margarida Gantes Padrão

(Maria Margarida Gantes Padrão)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos os que estiveram sempre do meu lado.

À minha orientadora, Dra. Ana Maria Matos, agradeço todo o apoio, disponibilidade e compreensão, à Dra. Célia, ao Dr. Ricardo, Dra. Vera e Dra. Marta, a oportunidade de realizar estágio na Farmácia Britânica, todos os conhecimentos transmitidos durante estes meses e a convivência vivida.

Ao meu Orientador Professor Doutor Saúl Pereira da Costa pela disponibilidade e a todos os restantes docentes pela participação na minha formação académica, indispensáveis no meu futuro como Farmacêutica.

À minha família, longe ou perto sempre prontos a cuidarem de mim.

Ana, Inês, Rita e Sara obrigada pelas aventuras vividas, gargalhadas partilhadas e por fazerem agora parte da minha família.

Um agradecimento muito especial à minha irmã, Teresa, que sempre me apoiou, nunca duvidando das minhas capacidades, incentivando-me a lutar para alcançar os meus objetivos estando sempre presente para me amparar. Obrigada do fundo do meu coração.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, agradeço por todas as memórias que levo comigo.

“Para tudo há um tempo, para cada estudante um momento...”

Obrigada Coimbra!

Resumo

O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas é constituído por diferentes unidades curriculares que se completam e pretendem abordar diversas saídas profissionais do sector farmacêutico. Para finalizar a formação académica, está incluída a unidade “Estágio Curricular”. Este documento inclui o meu relatório de estágio em farmácia comunitária, que resume a minha experiência segundo uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) em que, para além de expor as atividades e conhecimentos desenvolvidos e aplicados no estágio, também enuncio alguns casos clínicos relevantes durante estes seis meses.

A monografia presente neste documento tem como principal objetivo, no contexto atual de uma sociedade em que os produtos cosméticos assumem um lugar de destaque, fazer uma revisão da literatura existente acerca do tema “Avaliação toxicológica de produtos cosméticos”. O uso diário e cumulativo destes produtos, apesar de ser pouco associado a riscos de saúde, pode causar efeitos adversos aos usuários. O fácil e livre acesso por parte dos consumidores, a massiva divulgação, agressivas campanhas de marketing e a crescente preocupação relativa à imagem corporal constituem elementos facilitadores e indutores do consumo. Estes produtos devem ser avaliados toxicologicamente previamente à sua colocação no mercado. Alguns dos testes de irritação ocular e cutânea, inicialmente descritos por John Henry Draize (1900-1992), são procedimentos nocivos para os animais. No final da década de 60, exatamente por essa razão, surgiu a teoria dos 3 R's (*reduce, refine e replace*): reduzir o número de animais, refinar os métodos para causar menos sofrimento e substituir por completo o seu uso. Existe um esforço por parte da comunidade científica em aprimorar os métodos *in vitro*, uma vez que avanços consideráveis em novas tecnologias, nomeadamente na biologia de sistemas, bioinformática e modelagem computacional estarem a conduzir a uma mudança de paradigma em testes e avaliações toxicológicas.

Palavras-chave: produtos cosméticos; cosmetovigilância; toxicologia; métodos alternativos *in vitro*.

Abstract

The Master's degree program in Pharmaceutical Sciences is composed of different curricular subjects that complete each other and intend to approach several professional opportunities of the pharmaceutical sector. To finish the academic formation, is included the Unit "Curricular Internship". This document includes my internship report in community pharmacy, which summarizes my experience in a SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats) analysis in which, in addition to exposing the activities and knowledge developed and applied in the internship, I also enunciate some clinical cases during these six months.

The main goal of this monograph is to review the existing literature on the topic "Toxicological evaluation of cosmetic products", in the current context of a society in which cosmetic products play a prominent role. The daily and cumulative use of cosmetic products, although poorly associated with health risks, can cause adverse effects to users. The easy and free access by the consumers, the massive publicity, aggressive marketing campaigns and the growing concern about the body image are elements that facilitate and induce consumption. These products must be evaluated toxicologically prior to their placing on the market. Some of the ocular and cutaneous irritation tests initially described by John Henry Draize (1900-1992) are procedures that are harmful to animals. In the late 1960s, for that very reason, the theory of 3 R's (reduce, refine, and replace) arose: reduce the number of animals, refine methods to cause less suffering, and finally replace animal use. There is an effort on the part of the scientific community to improve the in vitro methods, since considerable advances in new technologies such as systems biology, bioinformatics and computational modeling are leading to a paradigm shift in toxicological testing and evaluation.

Keywords: cosmetic products; cosmetovigilance; toxicology; alternative in vitro methods.

Índice

PARTE I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas	
1. Introdução	9
2. Análise SWOT	10
3.1 Pontos Fortes	11
3.2 Pontos Fracos	14
3.3 Oportunidades	15
3.4 Ameaças	16
3. Casos Práticos	18
4. Considerações Finais	20

PARTE II – Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos

Abreviaturas	
1. Introdução	23
2. Contexto legislativo dos Produtos cosméticos e o papel da Autoridade Competente na Cosmetovigilância	24
3. Efeitos Indesejados a Produtos Cosméticos	27
4. Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos	31
5. Métodos de avaliação toxicológica de Produtos Cosméticos	33
6. Métodos validados pela EURL ECVAM em Toxicidade Tópica	35
6.1. <i>Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP)</i>	36
6.2. <i>Episkin</i>	37
7. Considerações Finais	40
8. Referências Bibliográficas	41

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária Farmácia Britânica

Janeiro 2017 – Junho 2017

Orientadora: Dra. Ana Maria Matos



Abreviaturas

ANF – Associação Nacional de Farmácias

DCI – Denominação Comum Internacional

FB – Farmácia Britânica

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento não sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

PVP – Preço de Venda ao Público

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

Com o final do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), chegou o momento de por em prática e consolidar todos os conhecimentos adquiridos ao longo do plano de estudos.

A Farmácia Britânica (FB), situada na rua Travessa da Légua da Póvoa em Lisboa, deu-me a oportunidade de realizar a Unidade “Estágio Curricular”, durante o período de 23 de janeiro a 15 de junho de 2017, sob a orientação da Dr. Ana Maria Matos. A dedicação e profissionalismo por parte de toda a equipa transmitiu-me os valores essenciais à prestação de serviços farmacêuticos e a percepção de que a Farmácia Comunitária representa a vertente com maior visibilidade da atividade farmacêutica sendo, muitas vezes, o primeiro local procurado pelo utente para receber cuidados de saúde primários.

Pude comprovar que o farmacêutico comunitário é considerado o agente de saúde pública mais acessível para a comunidade, na orientação quanto ao uso correto de medicamentos, na adesão à terapêutica, na prevenção de reações adversas, na promoção de um estilo de vida saudável e por último mas não menos importante, na realização de alertas para despiste de patologias.

O presente relatório sintetiza a minha experiência enquanto estagiária, através de uma análise crítica de todos os serviços, situações e realidades com que tive oportunidade de contactar na Farmácia Britânica, estruturado através de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) e a título exemplificativo, irei referir casos práticos relevantes durante estes seis meses.

2. Análise SWOT

Serve a seguinte análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) para expor a descrição e avaliação crítica do meu estágio curricular em farmácia comunitária do MICF.



2.1 Pontos Fortes

Integração na Equipa Técnica e Plano Estruturado do Estágio

Desde o primeiro dia de estágio, a equipa da FB, constituída por quatro farmacêuticas e um gestor de produtos, transmitiram-me o máximo apoio e esclareceram-me sobre todas as questões que me foram surgindo. A competência, o profissionalismo, a simpatia e a dedicação são características presentes em todos os profissionais constituintes da equipa.

Cada membro tem responsabilidades e funções definidas e desta forma, cada um pôde contribuir para a minha aprendizagem de forma diferente, mas igualmente importante. A organização na divisão de tarefas contribui para a coordenação e eficiência de todos os profissionais, evidenciando-se um espírito de entreatajuda forte, com o objetivo comum de alcançar a satisfação do utente.

O estágio foi concebido de forma faseada, possibilitando uma adaptação à equipa e à atividade farmacêutica. Comecei com uma visita guiada pela farmácia onde me foi explicada a disposição dos produtos farmacêuticos, e a rececionar encomendas, tarefa que é necessária realizar todos os dias, iniciando a minha interação com o sistema informático. Nesta fase é possível detetar erros que possam surgir, como por exemplo uma embalagem danificada, um produto com a validade curta ou com PVP (Preço de Venda ao Público) errado e a ausência de um produto encomendado. Considerei uma fase importante porque é feito o primeiro contato com nomes comerciais, respetivos princípios ativos, aspetos de embalagem, e consegui perceber quais os produtos com maior rotatividade. Todos os produtos estavam arrumados segunda a regra de “*first in first out*”, em que os produtos com um prazo de validade mais curto são os primeiros a ser vendidos.

Assim que realizasse estas tarefas dirigia-me ao balcão de forma a observar e escutar a minha orientadora através do aconselhamento prestado aos utentes que lá se dirigiam de forma a me ambientar. Numa fase posterior após ganhar mais autonomia iniciei mais ativamente o atendimento ao balcão.

Também pude auxiliar na verificação e processamento do receituário e desenvolvi competências de montagem de expositores, que eram alterados consoante a sazonalidade do ano.

Prestação de Serviços Farmacêuticos e Proximidade ao Utente

A FB localiza-se numa rua bairrista e faz parte do quotidiano de vida de utentes que residem nas proximidades e que se deslocam periodicamente, de forma fiel, à farmácia. Foi-me ensinado a realizar a medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, onde a relação farmacêutico-utente é bastante evidente.

A determinação de parâmetros como a pressão arterial, glicémia e colesterol total são serviços essenciais e amplamente requisitados, o que me ajudou a aperfeiçoar a técnica e amadurecer conhecimentos para um aconselhamento personalizado sobre medidas farmacológicas e não farmacológicas ao utente. Verifiquei que este serviço aumenta a proximidade com o utente, facilita a transmissão de informações e o esclarecimento de dúvidas que podem condicionar a adesão à terapêutica.

A disponibilidade total transmitida pelos trabalhadores da FB refletia-se na familiaridade e confiança depositada nos mesmos, pelos utentes que moram ao redor da farmácia. Por exemplo, caso fosse possível deslocava-me a casa de utentes para medir a tensão ou entregar os medicamentos, e aí explicava a posologia de cada medicamento para saberem exatamente quando deveriam tomar, se de manhã, depois de almoço ou à noite, principalmente em utentes idosos e com mobilidade limitada.

Sistema Informático – SIFARMA 2000®

O Sifarma 2000® é um *software* que considero uma ferramenta fundamental, não só nos atendimentos como no *backoffice*, na gestão de *stocks* e receção de encomendas. Durante o atendimento é muito útil pelas diversas informações respetivas ao medicamento solicitado, como as indicações terapêuticas, posologia, composição qualitativa e quantitativa, efeitos secundários, possíveis interações e precauções a ter durante a utilização. É também possível registar os utentes através da criação de Ficha de Utente, na qual ficam registados os medicamentos, valores de parâmetros bioquímicos, entre outros dados, que possibilitam um melhor acompanhamento farmacoterapêutico, garantindo um atendimento mais eficiente, personalizado e completo.

Prescrição eletrónica/ Receita sem papel e Mensagem telefónica

A receita sem papel permite ao utente que no ato da dispensa possa optar por aviar todos os produtos prescritos, MSRM e MNSRM, ou apenas parte deles, sendo ainda possível aviar os restantes em estabelecimentos ou datas distintas. Assim, o utente pode gerir da forma que entender, sendo muitas vezes útil quando o valor monetário é elevado.

Cartão Saúde

O cartão Saúde permite aos utentes acumularem pontos para descontar em qualquer compra na farmácia incluindo MSRM, ou podem ser trocados diretamente por produtos que constem na revista Saúde. Este cartão é uma iniciativa da ANF para promover a fidelização às farmácias assim como uma dinamização das vendas, de forma a competir com outros espaços de venda de produtos de saúde, sendo necessário um papel ativo do farmacêutico no que respeita à adesão dos utentes ao cartão.

Responsabilidade Social

Durante o estágio, verifiquei uma elevada adesão por parte da população ao sistema Valormed[®], de gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso, o que demonstra uma predominante consciencialização para a sensibilização ambiental. Através de contentores que estão instalados nas farmácias, os utentes colocam de forma segura os medicamentos que se encontram fora do prazo, inutilizáveis ou embalagens vazias.

Fornecimento a instituições

Um dos pontos diferenciadores no meu estágio, foi a visita semanal ao Lar São Francisco de idosos. A organização da dispensa dos medicamentos é elaborada por farmacêuticos o que permite realizar uma revisão regular da medicação, detetar e corrigir erros de prescrição e possíveis interações medicamentosas, por vezes ocorridas.

2.2 Pontos Fracos

Dificuldade na associação de nomes comerciais à nomenclatura DCI

Uma das dificuldades com que me deparei no estágio foi o facto de estar familiarizada com a designação por DCI (Denominação Comum Internacional) e não com todos os nomes comerciais dos medicamentos. Apesar de a prescrição ser atualmente segundo esta nomenclatura, muitos utentes não identificam os medicamentos desta forma, referindo-se geralmente ao nome comercial. Ao longo do estágio a familiarização das marcas foi se tornando mais intuitiva, e assim, pude ser mais assertiva e eficaz no meu atendimento.

Limitação de conhecimentos em Produtos de Saúde de Venda Livre

A FB é frequentada por utentes de diferentes idades e géneros, o que me permitiu a aplicação de conhecimentos de diversas áreas para além do setor do medicamento. Existe uma enorme variedade de produtos de saúde que estão organizados por categorias, como buco-dentários, dermocosmética, fitoterapia, homeopatia, ortopedia, puericultura, veterinária, higiene íntima, entre outros.

Devido ao facto de se encontrarem três clínicas dentárias ao redor da farmácia, a procura de produtos ortodônticos era bastante frequente. Fui igualmente bastante abordada na área de dermocosmética e apercebi-me de que os meus conhecimentos eram limitados e que desconhecia as linhas orientadoras principais que ajudam a sustentar o aconselhamento. Tive a necessidade de aprofundar conhecimentos em todas as diferentes áreas referidas, de modo a prestar um melhor aconselhamento.

Dificuldade na interpretação de receitas manuais

Ao longo dos vários meses do estágio, deparei-me com diversas receitas manuais. A dificuldade em compreender a caligrafia e conseqüentemente do que era prescrito, revelou-se um obstáculo para a interpretação correta da receita, levando a um atendimento, por vezes, mais moroso. Nestes casos, pedia sempre opinião a minha orientadora ou a alguma colega que estivesse mais disponível.

2.3 Oportunidades

Formações Internas e Externas

A formação contínua é uma mais-valia na prestação de um aconselhamento atualizado, capaz de garantir a melhor opção de entre todas as disponíveis no mercado. Para além de ser uma estratégia da respetiva marca para cativar a equipa profissional da farmácia a promover os seus produtos, reconheço que foram muito importantes para aprimorar os meus conhecimentos e preparar-me para um aconselhamento personalizado e adequado a cada utente.

De acordo com as marcas e gamas vendidas na FB, tive oportunidade de participar em ações de formação internas, na própria farmácia, promovidas por delegados de informação médica de empresas como a *Pierre Fabre Oral Care*, *Laboratoires Filorga*, e formações externas de empresas e laboratórios, tais como *Biorga Dermatologie*, *Lierac*, *Phyto*, *IFC SkinCare Portugal*. Estive presente no XX Fórum Farmácia Edol, Urgências em Oftalmologia e Otorrinolaringologia na própria localização da empresa, formação extremamente útil e vantajosa para alguém inexperiente como eu, em situações de atendimento associadas a problemas nos ouvidos e nos olhos.

Preparação de Manipulados e Reconstituição de Preparações Extemporâneas

Tive a oportunidade de realizar medicamentos manipulados prescritos numa receita onde se encontrava a indicação “f.s.a.” (faça segundo a arte), com supervisão de uma colega. A título de exemplo, um Álcool a 60% saturado com Ácido Bórico para tratamento de uma infeção auricular e uma Vaselina Salicilada a 2% para o tratamento de uma infeção cutânea, com base num formulário galénico e as boas práticas e preparação de manipulados.

Na zona de preparação encontra-se um dossiê que utilizei sempre que recebi uma receita de um medicamento manipulado, onde arqueei uma fotocópia da receita e preenchia toda a informação necessária. Para cada preparação existiam fichas de “Preparação de Medicamento Manipulado” que engloba a caracterização do manipulado, a matéria-prima que é utilizada, o respetivo lote, datas de validade, quantidades calculadas pesadas, o protocolo de preparação e a rúbrica do operador e supervisor em cada passo. A caracterização da embalagem é igualmente um requisito que deve ser preenchido descrevendo o material, a capacidade total e o lote de origem. Por fim é necessário verificar e igualmente rubricar os

ensaios de cor, odor, aspeto e quantidade de manipulado elaborado. Elaboramos e imprimimos duas rotulagens iguais feitas no computador, uma das rotulagens colocamos na embalagem e a outra colamos numa das páginas da ficha de preparação de manipulados. Esta engloba a identificação da farmácia, a denominação do medicamento, o teor em substância ativa, a quantidade dispensada, a data de preparação e o prazo de utilização.

Realizei preparações extemporâneas, nomeadamente de antibióticos como o Clavamox ES[®] adicionando água até à seta indicada no rótulo, agitando vigorosamente para suspender o pó, e por fim completar com água até ao traço de referência. Neste caso informei o utente que a suspensão deve ser mantida no frasco, bem rolhado, no frigorífico, agitar bem antes de usar e ser utilizada no prazo de até 10 dias.

2.4 Ameaças

Quebra de Stocks

A existência de medicamentos esgotados é uma problemática a nível nacional. A FB não fugiu à regra colocando em causa a fidelidade dos utentes dada a insatisfação causada por esta situação. Eram reunidos todos os esforços para a obtenção destes medicamentos através dos fornecedores, para que chegassem na última encomenda do próprio dia, ou na primeira encomenda do dia seguinte. Por vezes recorriamos a outra farmácia que se encontrava relativamente perto e através de um telefonema e caso esse medicamento estivesse disponível, iríamos buscá-lo. Caso não estivesse disponível, tínhamos que aguardar e às vezes por tempo indefinido.

Alteração do preço de medicamentos

Quando os utentes estão habituados a pagar uma certa quantia por um medicamento, nomeadamente nos genéricos, questionam quando lhes dizemos que têm que pagar um valor superior. Apesar de ser uma questão que não está dependente das farmácias acaba por criar desconfiança por parte dos utentes devido à constante oscilação do preço dos medicamentos, mesmo quando era explicado que não era uma situação controlada e estabelecida pela farmácia.

Realidade Socioeconómica

Ao longo do estágio deparei-me com diversas situações em que os utentes não aderiram à terapêutica medicamentosa por motivos económicos. Nestas circunstâncias sugeria medicamentos genéricos, e por isso consequentemente mais baratos. Cabe-nos a nós farmacêuticos, adequar a intervenção farmacoterapêutica de acordo com as possibilidades do utente sempre lesando pelo seu bem-estar e proporcionando o melhor aconselhamento possível.

3. Casos Clínicos

Caso I

- Utente do sexo masculino com diarreia desde a noite anterior, solicita um IMODIUM®.

- Expliquei que medicamentos que reduzem o peristaltismo como o solicitado não estão indicados porque podem prolongar a diarreia por retenção de toxinas e que a maioria dos casos de diarreia aguda é autolimitada.

- Recomendei o Bi-Oral Suero®, um suplemento alimentar rico em líquidos e sais minerais e um potente probiótico, para repor os fluídos, eletrólitos e a flora intestinal. Informo que devia seguir algumas medidas não farmacológicas como uma dieta equilibrada, evitar produtos laticínios e café.

Caso II

- Utente do sexo feminino diz que tem tipo dificuldade a adormecer e a dormir durante o a noite.

- Aconselhei o MNSRM Valdispert Noite Total, uma vez que é constituído por Melatonina, que ajuda a induzir o sono, óleo essencial de lavanda, que contribui para o relaxamento, e extrato de papoila da califórnia, que melhora a qualidade do sono.

- Referi que a ingestão de substâncias como o café deve ser evitada assim como também deve evitar estar no telemóvel, computador ou mesmo a ver televisão antes de adormecer de modo a contrariar estes estímulos que ajudam a despertar.

Caso III

- Utente do sexo masculino refere que tem tosse com expetoração e dores de garganta já há alguns dias.

- Recomendei um mucolítico, como a acetilcisteína (Fluimucil®), que ajuda na expulsão das secreções e umas pastilhas com efeito analgésico e anti-inflamatório local, nomeadamente flurbiprofeno (Streptfen®), indicando a toma a cada 3-6 horas, sem exceder as 5 pastilhas por dia. Questionei o utente se era diabético e respondeu que não.

- Aconselhei a ingestão de bastante água para fluidificar as secreções, e aumentar a ingestão de bebidas mornas, como um chá de eucalipto e mel.

Caso IV

- Utente do sexo feminino refere que está com uma infeção urinária e que sente um desconforto permanente e dor ao urinar. Solicita um antibiótico.

- Referi que os antibióticos são medicamentos recomendados por indicação médica com prévia análise rigorosa da situação, e por isso deveria ir ao médico assim que possível.

- Recomendei o suplemento alimentar Spasmurin que contém elevado teor de Proantocianidinas pois promovem a redução da aderência de bactérias às paredes do trato urinário, sendo posteriormente eliminadas na urina.

- Aconselhei a ingestão de grande quantidade de água e de chá de arando vermelho, que apresenta propriedades preventivas de infeções urinárias.

4. Considerações Finais

Dado por terminado o meu percurso académico como estudante de Ciências Farmacêuticas, posso concluir que esta unidade curricular é determinante para a consciencialização do papel que o farmacêutico desempenha na comunidade. O Estágio Curricular contribuiu para um amadurecimento de conhecimentos, para uma postura mais confiante e consciente de modo a solucionar problemas e aconselhar os utentes da melhor forma possível.

Consta que muitos são os serviços prestados que acrescentam qualidade na vida dos utentes, que o farmacêutico tem de ser multicompetente, capaz de se adaptar às mudanças constantes do sector, tanto a nível técnico e científico como económico e social. Percebi que a preocupação com a saúde e bem-estar da comunidade me move, e que este é o percurso que me vai fazer sentir realizada.

A duração do estágio é suficiente mas penso que poderia estar reservado um ano letivo inteiro para a realização de estágios não só no sector de farmácia comunitária, mas também nas outras áreas de saídas profissionais que o curso abrange. Assim, com a possibilidade de os alunos passarem por diferentes vertentes do setor farmacêutico de forma obrigatória, como a indústria e a farmácia hospitalar, poderia ser mais claro a nível prático o dia-a-dia de um trabalhador nessas áreas.

Por fim, resta-me referir que da Farmácia Britânica levo um grande exemplo de profissionalismo. Ao longo dos meses senti uma enorme evolução gradual do meu desempenho, melhorei a minha capacidade de comunicação e destreza em adaptar-me a diferentes situações que foram surgindo.

Parte II

Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos

Orientador Professor Doutor Saúl Pereira da Costa

Abreviaturas

AC – Autoridade Competente

BCOP – *Bovine Corneal Opacity and Permeability*

CCSC – Comité Científico da Segurança dos Consumidores

CPNP – *Cosmetic Products Notification Portal*

EI – Efeito Indesejado

EUA – Estados Unidos da América

EURL ECVAM – *European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing*

FIP – Ficheiro de Informações sobre o Produto

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

IVIS – *In Vitro Irritation Score*

MTT – *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*

PC – Produto Cosmético

PR – Pessoa Responsável

RhE – Modelos de epiderme humana reconstruída

EU – União Europeia

I. Introdução

O desenvolvimento de produtos cosméticos tem crescido em larga escala nos últimos anos, e muitas vezes nem nos apercebemos da envolvimento deste setor no nosso quotidiano. Desde produtos de higiene de corpo e rosto, proteção solar, cuidados infantis, cuidados capilares e higiene oral, vários são os produtos utilizados por toda a sociedade. O fácil e livre acesso por parte dos consumidores através das farmácias, grandes superfícies e parafarmácias/espços saúde, a massiva divulgação, agressivas campanhas de marketing e a crescente preocupação relativa à imagem corporal, constituem elementos facilitadores e indutores do consumo.

Os componentes dos produtos cosméticos são classificados de acordo com os seus níveis cancerígenos, mutagénicos, tóxicos ou alergénicos. Estes produtos contêm inúmeras substâncias que não estão diretamente relacionados com os efeitos desejados, mas estão incluídas para conferir propriedades de estabilização e conservação, de modo a evitar meios de crescimento, a propagação de microrganismos ou melhorar a absorção do produto através da pele. Assim, o uso de conservantes, filtros UV, corantes, fragrâncias e produtos químicos aromáticos também é controlado.

Deste modo, todos os produtos cosméticos devem ser avaliados toxicologicamente antes de serem aprovados para o mercado, com a garantia de que são seguros para a saúde humana, quando usados em condições de utilização normais ou razoavelmente previsíveis.^[1]

O presente trabalho tem como objetivo analisar de que forma é feita a avaliação toxicológica dos produtos cosméticos com base na norma regulamentar que suporta essa avaliação, a exemplificação de alguns métodos pelos quais pode ser efetuada, e o papel da Autoridade Competente Nacional do medicamento e produtos de saúde (Infarmed) no âmbito da vigilância do mercado destes produtos.

2. Contexto legislativo dos Produtos Cosméticos e o papel da Autoridade Competente na Cosmetovigilância

De acordo com a legislação europeia entende-se por «Produto cosmético», “qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou corrigir os odores corporais”. Não são considerados os produtos que embora estejam de acordo com a definição se destinem a proteger contra doenças, substâncias ou misturas que se destinem a ser ingeridas, inaladas, injetadas ou implantadas no corpo humano.^{[2][3]}

A Diretiva dos produtos cosméticos (1976-2013) para os Estados Membros da União Europeia (UE) foi regulamentada em 2013 como um ato legislativo único que é adotado direta e simultaneamente em todo o território europeu, com o objetivo de garantir um alto nível de segurança, melhorar o funcionamento do mercado interno, introduzir a notificação de efeitos indesejados e definir novas regras para a utilização de nanomateriais. No entanto, os produtos cosméticos não são objeto de uma autorização administrativa prévia à colocação no mercado nacional tal como é feito com os medicamentos.

Apenas é exigido um procedimento de notificação às AC (Autoridades Competentes), o Infarmed no caso de Portugal, por parte da PR (Pessoa Responsável), ou seja, a entidade à qual é imputada a responsabilidade por tudo o que diga respeito ao produto cosmético dentro da União Europeia. Esta notificação é feita no CPNP (*Cosmetics Products Notification Portal*) e permite à AC tomar conhecimento da colocação do PC no mercado e assim controlar e fiscalizar estes produtos. Deste modo é possível garantir a qualidade dos mesmos, e, com principal fim, estabelecer uma proteção eficiente da saúde pública.

Alguns dos elementos exigidos durante a notificação dos produtos cosméticos no portal CPNP englobam a categoria a que pertence o produto, o país de origem em caso de importação, o Estado-Membro em que se prevê a colocação no mercado e o número CAS ou o número CE das substâncias classificadas como cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução. É importante referir que o facto de um produto ter sido notificado com êxito através do CPNP não significa necessariamente que esse produto satisfaz todos os

requisitos do Regulamento (CE) n°1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos produtos cosméticos.^{[4][5]}

O alvo de fiscalização por parte do Infarmed é o produto acabado e é feito através de mecanismos de controlo laboratorial, atividades inspetivas, tratamentos de denúncias e notificações rapex (*Rapid Alert System for all dangerous consumer Products*), sistema europeu de alerta para produtos de natureza não alimentar colocados no mercado. No *esquema I* são apontadas as principais ações de supervisionamento por parte do Infarmed nos produtos cosméticos que circulam no mercado.^[6]

<i>Controlo do Infarmed - Autoridade competente</i>	Verifica se os cosméticos em circulação no mercado estão em conformidade com a legislação.
	Controla se a rotulagem do PC não contém referências ao possível potencial terapêutico, as quais são exclusivas dos medicamentos.
	Inspecciona fabricantes, distribuidores ou qualquer entidade que disponibilize PC. A PR por determinado produto deve ser capaz de provar que o seu processo de fabrico está em conformidade com as Boas Práticas de Fabrico de Produtos Cosméticos.
	Recolhe periodicamente amostras para avaliação da sua qualidade.
	Monitoriza a notificação de efeitos indesejáveis ocorridos em Portugal.

Esquema I. Supervisionamento dos Produtos Cosméticos pela Autoridade Competente.^[7]

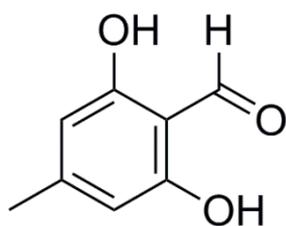
O controlo do cumprimento das exigências legais que recaem sobre os produtos cosméticos justifica-se essencialmente pela necessidade de proteção da saúde pública. O sistema de cosmetovigilância implementado pela AC consiste na observação e análise dos produtos existentes no mercado de modo a implementar medidas preventivas e corretivas, de acordo com a análise de causalidade efeito.^[2]

A título de exemplo, várias AC de diferentes Estados-Membros indicaram recentemente problemas de segurança relacionados com a utilização de diferentes ingredientes nos produtos cosméticos. São exemplo o caso do óleo de amendoim, devido à sensibilização induzida pela exposição cutânea e as proteínas de trigo devido a casos de urticária de contacto, seguida de choque anafilático após a ingestão de alimentos

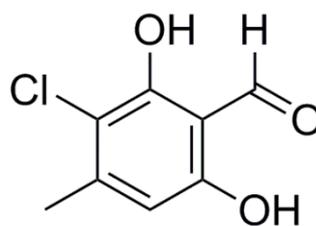
relacionados com os produtos cosméticos que contêm estas mesmas proteínas. A fim de minimizar um risco potencial para a saúde humana o CCSC (Comité Científico da Segurança dos Consumidores) definiu como valores de concentração máxima 0,5 ppm de proteínas de amendoim e declarou que a massa molecular máxima de péptidos nos hidrolisados de proteínas de trigo seja 3,5 kDa. Como resultado, a partir de 25 de setembro de 2018 a indústria não pode colocar no mercado da UE produtos cosméticos que ultrapassem os níveis máximos definidos.^[8]

Um caso idêntico, relativamente às substâncias 2,6-di-hidroxi-4-metil-benzaldeído (atranol) e 3-cloro-2,6-di-hidroxi-4-metil-benzaldeído (cloroatranol), componentes naturais dos extratos de musgo (*Evernia prunastri*) e de (*Evernia Furfuracea*), alérgenos de fragrâncias responsáveis pelo maior número de casos de alergia de contacto, o CCSC indicou que estas substâncias devem ser proibidas.

O procedimento complexo e moroso para reformulação das fragrâncias garantindo as propriedades olfativas, devem refletir-se num prazo mais longo para que a indústria adapte os produtos. A partir de 23 de agosto de 2019 não podem ser colocados no mercado da UE produtos com estes ingredientes.^[9]



Atranol



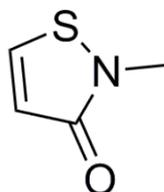
Cloroatranol

Fórmulas químicas do Atranol e do Cloroatranol.

Atualmente ainda é desconhecido o conservante ideal que não tenha repercussões quando aplicado na formulação final. Este deve apresentar idealmente a ausência de irritação/sensibilização, uma estabilidade numa ampla escala de temperaturas e pH por períodos de tempo continuados, compatibilidade com os ingredientes constituintes e com o material de embalagem, eficácia contra microrganismos e ausência de odor.

Como último exemplo, o CCSC concluiu que no que se refere ao conservante 2-metil-2H-isotiazol-3-ona, ao qual foi atribuído a denominação de «metilisotiazolinona» pela

Nomenclatura Internacional dos Ingredientes Cosméticos, associada à indução de alergias por contacto, uma concentração máxima de 0,0015% (15 ppm) nos produtos cosméticos enxaguáveis. Desde 27 de janeiro de 2018, só são colocados no mercado da UE produtos cosméticos em conformidade com esta concentração máxima estabelecida.^{[1][10]}



Metilisotiazolinona

Fórmula química da Metilisotiazolinona.

3. Efeitos Indesejados a Produtos Cosméticos

A principal via de absorção de produtos cosméticos é a via cutânea. A pele, o maior órgão do corpo humano, é formada por várias camadas, proporcionando uma barreira eficiente que controla o movimento de água e eletrólitos, essencial para manter a homeostasia geral e proteger o corpo contra estímulos potencialmente nocivos. Contudo, este órgão pode estar exposto a uma variedade de substâncias químicas e pode ser permeável a substâncias potencialmente tóxicas.^[11]

De acordo com a severidade e reversibilidade dos efeitos distingue-se entre corrosão e irritação da pele. As substâncias irritantes levam a uma inflamação cutânea, induzida quimicamente, desencadeada por um dano celular através de mecanismos do sistema imune inato (não específico), local e reversível. As células da pele libertam mediadores inflamatórios (ex. citocinas) que aumentam o diâmetro e a permeabilidade dos vasos sanguíneos, atraem células imunes (ex. mastócitos e neutrófilos) ao local da lesão e desencadeiam a migração de células imunes que participam na reparação do tecido lesado. Esta resposta inflamatória local leva aos sintomas clínicos clássicos de irritação da pele como o rubor, calor, dor e edema da área de tecido afetada. As substâncias corrosivas danificam irreversivelmente a pele exposta através da necrose do tecido da área envolvente, com a possibilidade de ser regenerada apenas a partir da pele saudável que envolve o tecido necrótico. Relativamente aos produtos cosméticos a corrosividade não é geralmente um

fator de risco, mas pode ocorrer um erro de fabricação ou o uso inapropriado pelo consumidor dando origem a efeitos adversos.^{[12][13]}

As principais reações adversas a ingredientes cosméticos, representadas na *tabela 1*, podem ser classificadas como dermatites de contato e subdividem-se em irritação subjetiva/pele sensível, irritação aguda e crónica, reação alérgica e reação fotoinduzida.^[14]

Tabela 1. Principais reações adversas (dermatites de contacto) a ingredientes cosméticos.^[14]

Dermatites de contato	Caracterização
Irritação subjetiva/pele sensível	Conhecida como “síndrome da intolerância a cosméticos”, depende da capacidade irritante da substância, da resistência da pele, da duração e repetição da aplicação. Causa ardor e repuxamento.
Irritação aguda e crónica	A irritação aguda ocorre devido a uma exposição direta da substância e provoca eritema e vesiculação. A fase crónica ocorre após exposição contínua e apresenta-se pelo enrijamento e fissuras da pele. As substâncias irritantes removem os lípidos do extrato córneo e danificam os queratinócitos.
Reação alérgica	Ocorre após o contacto com o agente alérgico, em indivíduos com predisposição às substâncias, (hipersensibilidade), envolvendo mecanismos de resposta imunológicos, (indução da produção de anticorpos), o que pode originar efeitos em áreas diferentes da aplicação do produto.
Reação fotoinduzida	Alteração bioquímica provocada pela radiação, evidenciada por uma queimadura semelhante à de uma exposição solar, através de um contacto prévio com a substância causadora.

É da responsabilidade dos profissionais de saúde, profissionais do sector, fabricantes e consumidores, notificar efeitos indesejáveis e efeitos indesejáveis graves ao Infarmed. A informação mínima deve conter a identificação do notificador, a descrição do produto

cosmético, a identificação do utilizador e a descrição do efeito indesejado (EI).

Em caso de inconformidades, se forem evidenciados riscos para a saúde ou o incumprimento grave da legislação, a Autoridade Competente exige que os responsáveis apliquem as medidas necessárias para as corrigir ou tornar o produto conforme. O sistema é articulado através de ações corretivas como a alteração de rotulagem, alteração das listas de ingredientes, retirada de lotes, retirada do produto em causa do mercado nacional, a divulgação de circulares informativas e outras informações de segurança.^[2]

Exemplificando a realização de uma ação informativa, foi feita uma comunicação sobre as “Tatuagens de henna negra” com *p*-fenilenodiamina, um corante usado em concentrações elevadas de forma a acentuar a cor negra do pigmento e prolongar o efeito da tatuagem, desencadeando reações alérgicas. Nos casos graves, obrigam a uma intervenção médica urgente, incluindo hospitalização. Danos permanentes na pele e dermatites de contacto alérgico são efeitos adversos de longa duração associados a estas tatuagens. Este EI é representado na figura 1.^{[15][16]}



Figura 1. Efeito Indesejado causado pelas Tatuagens de Henna.

Igualmente a título de exemplo, foi feita uma ação de recolha de produtos cosméticos na sequência de notificações de casos de sensibilização à vitamina K por via tópica. Através da administração oral ou parenteral de vitamina K esta pode ser usada para reverter a anticoagulação excessiva por varfarina, reduzir rapidamente a razão normalizada internacional (INR) num intervalo seguro e consequentemente o risco de sangramento agravado. Os doentes correm sérios riscos se tiverem necessidade de seguir uma terapêutica medicamentosa com vitamina K e concomitantemente usarem produtos cosméticos que contenham esta vitamina na forma não oxidada na sua formulação. Assim, os produtos cosméticos EKYCED e AURIDERM que continham esta vitamina na sua composição, foram recolhidos do mercado internacional.^{[17][18]}

Para além dos efeitos indesejados relativos a dermatites de contacto, existem estudos de ingredientes cosméticos específicos, por estarem relacionados com possíveis

efeitos adversos cancerígenos, neurotóxicos ou por serem classificados como possíveis desreguladores endócrinos. Os parabenos, os ftalatos, os produtos químicos perfluorados, os sais de alumínio, o triclosan, o bisfenol A e os filtros de radiação UV, identificados na *tabela 2*, são alguns exemplos de ingredientes que têm sido alvo de estudos, através de métodos *in vitro* e *in vivo*, por serem utilizados extensivamente em produtos cosméticos. Têm sido alvo de investigação por parte da indústria farmacêutica e por peritos em toxicologia, através dos mais recentes dados científicos.^[19]

Tabela 2. Ingredientes usados em produtos cosméticos relacionados com efeitos adversos cancerígenos, neurotóxicos ou desreguladores endócrinos.^[19]

Ingrediente Cosmético	Ação do Ingrediente	Uso do Ingrediente em produtos cosméticos
Parabenos (Ácido p-hidroxibenzóico e ésteres do mesmo)	Agente antimicrobiano	Antitranspirantes, cremes corporais e protetores solar
Ftalatos (Compostos químicos derivados do ácido ftálico)	Plastificante, veículo para fragrâncias, lubrificante e solvente	Produtos de cabelo e sabonetes líquidos
Produtos químicos perfluorados	Repelentes de água e gorduras	Loções ou esmaltes de unhas
Sais de alumínio	Antitranspirante	Desodorizantes antitranspirantes
Triclosan	Conservante	Desodorizantes, pastas dentífricas e sabões
Bisfenol A	Antioxidante	O seu uso foi proibido na União Europeia por migrar de embalagens plásticas para o produto.
Filtros UV absorventes/orgânicos (oxibenzona) ou bloqueantes/inorgânicos (nanopartículas dos óxidos metálicos TiO ₂ e ZnO)	Filtro UV	Protetores solares e produtos que contêm filtros UV

4. Avaliação Toxicológica de Produtos Cosméticos

A grande diversidade de matérias-primas obriga a uma seleção segura e eficaz de ingredientes de produtos cosméticos. Entre as várias fontes de ingredientes incorporantes do produto final incluem-se os ingredientes químicos, os corantes, os filtros solares sendo a preocupação atual centrada na capacidade dos nanomateriais em penetrar as camadas mais profundas da pele, as fragrâncias e finalmente produtos botânicos, muitos destes extraídos de plantas consumíveis o que minimiza o risco da sua utilização como cosméticos.

Antes de ser colocado no mercado, a Pessoa Responsável, deve certificar-se de que o produto cosmético foi submetido a uma avaliação de segurança, tendo em consideração o perfil toxicológico geral dos ingredientes e do produto final. Deve manter um ficheiro de informações sobre o produto (FIP), tendo em consideração a utilização razoavelmente previsível e a evolução do conhecimento científico. Este ficheiro de informações deve ser mantido durante 10 anos após o último lote do produto colocado no mercado na posse da PR e acessível à Autoridade Competente em caso de inspeção.

A informação contida no FIP deve conter o relatório de segurança, a descrição do processo de fabrico e os dados relativos aos ensaios em animais realizados pelo fabricante. O relatório de Avaliação de Segurança deve no mínimo conter:

- **Parte A – INFORMAÇÃO SOBRE A SEGURANÇA DO PRODUTO COSMÉTICO**

Visa recolher os dados necessários do produto cosmético, dos ingredientes e da matéria-prima a fim de determinar os riscos que o produto pode apresentar à saúde pública. O risco é influenciado pelo processo de fabrico, pela embalagem, condições de utilização do produto, qualidade microbiológica, quantidades usadas e pelo perfil toxicológico das substâncias.

- **Parte B – AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DO PRODUTO COSMÉTICO**

Esta secção deve incluir uma descrição sucinta do método de fabrico do produto cosmético e consiste num relatório de conclusão sobre a segurança do PC, baseado na informação contida na Parte A.

Parte A

- Composição quantitativa e qualitativa.
- Características físico-químicas, estabilidade, determinação do PAO (*period-after-opening*) e estudos de interação com os materiais de embalagem.
- Qualidade microbiológica com particular atenção às substâncias e misturas mais suscetíveis de contaminação microbiana (aquosas e ricas em proteínas), aos PC usados à volta dos olhos, mucosas, pele lesionada, crianças com idade inferior a 3 anos e pessoas idosas e com resposta imunitária comprometida.
- Impurezas.
- Utilização normal e prevista.
- Exposição primária (local e área de aplicação) e vias de exposição secundária (inalação, ingestão).
- Substâncias geradas ou libertadas durante o uso do produto.
- Perfil toxicológico das substâncias, toxicidade local (irritação cutânea e ocular, sensibilização cutânea e toxicidade fotoinduzida), efeitos sistémicos e margem de segurança (MdS) com base em níveis de efeitos adversos não observáveis (NEANO).
- Efeitos Indesejáveis e efeitos indesejáveis graves, avaliação da causalidade e medidas corretivas.

Parte B

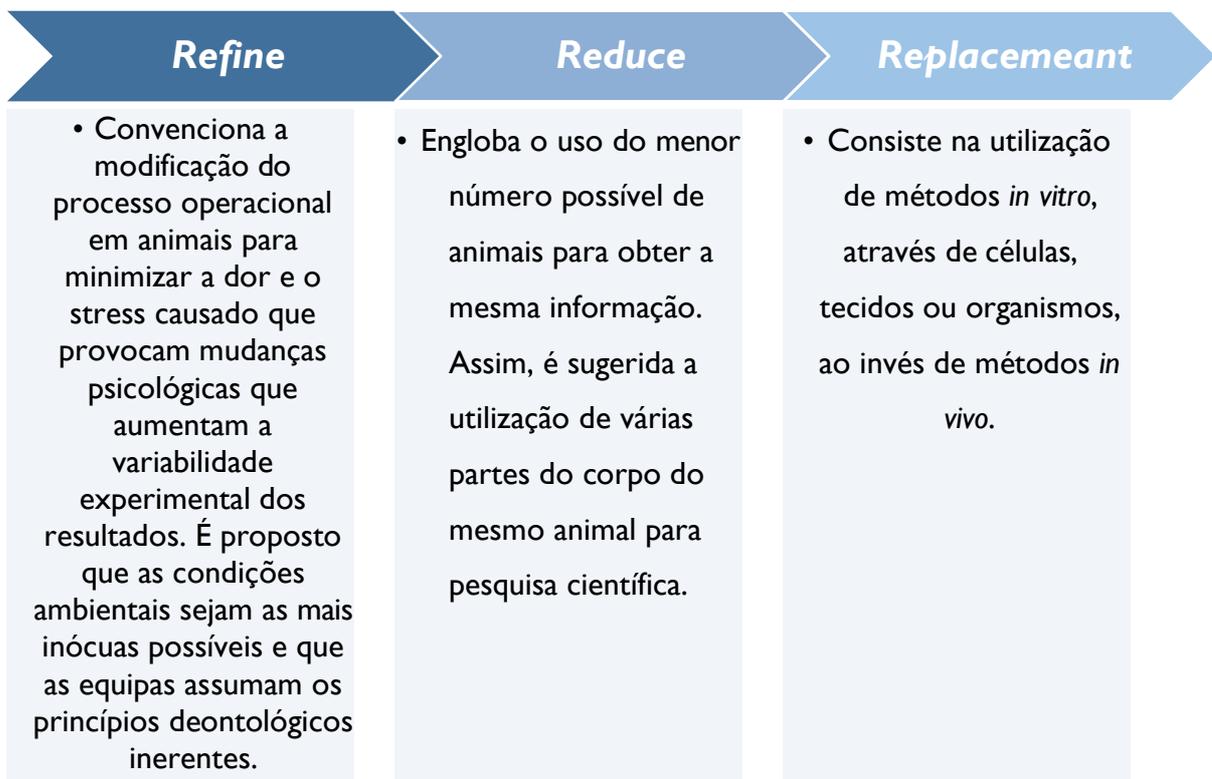
- Método de Fabrico.
- Prova de cumprimento com as Boas Práticas de Fabrico (BPF).
- Provas dos efeitos alegados para Produtos Cosméticos.
- Dados relativos aos ensaios em animais.
- Rotulagem.

Conteúdos do relatório de Avaliação de Segurança de um Produto Cosmético.^[2]

5. Métodos de avaliação toxicológica nos Produtos Cosméticos

A utilização de animais em laboratório para determinar o potencial de irritação de produtos e substâncias usadas em cosméticos começou a ser usado na década de 40. Em 1944, *John H. Draize*, toxicologista da *Food and Drug Administration* dos EUA, desenvolveu o teste Draize, originalmente usado para avaliar a segurança de PC em coelhos. Estes procedimentos agressivos que interferem na segurança dos animais resultaram em censura e debates por parte de entidades não-governamentais. Deste modo, os métodos alternativos têm sido objeto de estudo e investigação para minimizar os métodos *in vivo*.^[20]

O princípio dos 3 R's foi definido por William Russel e Rex Burch, em 1959, em *Principles of Human Experimental Technique*. Os 3 R's, “*Refine*”, “*Reduce*” e “*Replacement*” descritos no *esquema 2*, representam a estratégia de como minimizar o uso de animais e o seu sofrimento, sem interferir com a qualidade científica, com o objetivo final da substituição total de animais por modelos experimentais.^{[20][21]}



Esquema 2. Simbolismo dos 3 R's como estratégia para minimizar o uso de animais em métodos experimentais.^[21]

A indústria farmacêutica tem sido o principal motor de investimento nos estudos desta área, resultando daí, um avanço na avaliação do potencial toxicológico dos PC. A diretiva destes produtos foi alterada em 2003 e solicitou um calendário para a proibição progressiva da utilização de animais de laboratório em ensaios e promoveu a utilização de métodos alternativos já validados e aprovados. Como consequência, resultou a proibição de ensaios em animais para a colocação no mercado de produtos cosméticos ou de ingredientes inseridos na formulação final, respetivamente em 2004 e 2009. A derrogação só pode ser concedida se o ingrediente for largamente utilizado e não puder ser substituído por outro ingrediente apto a desempenhar funções semelhantes, se existir um problema específico de saúde humana fundamentado ou se a necessidade de efetuar ensaios em animais for justificada mediante um protocolo de investigação pormenorizado proposto para servir de base à avaliação.^[21]

O EURL ECVAM (*European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing*) valida novos métodos que podem substituir, reduzir e refinar o uso de animais em testes científicos para PC. As condições que facilitam a aceitação internacional e regulamentar dos métodos para a validação são definidas como o processo pelo qual a confiabilidade e relevância de uma determinada abordagem, método ou avaliação, são estabelecidas para um propósito definido em condições padronizadas e controladas.^[22]

Os métodos alternativos estão disponíveis e aprovados em áreas onde a ciência subjacente é mais avançada, como a toxicidade local, devido aos progressos feitos por parte da EURL ECVAM na validação e aceitação regulatória. Neste caso, os esforços contínuos concentram-se principalmente na otimização e aperfeiçoamento dos métodos de teste aceites para que o seu impacto nos “3 Rs” possa ser aumentado e os métodos de teste mais utilizados. Para áreas mais complexas, como a toxicidade sistémica crónica, carcinogenicidade ou toxicidade reprodutiva, os esforços estão predominantemente focados na investigação e desenvolvimento.^[22]

6. Métodos validados pela EURL ECVAM em Toxicidade Tópica

Os métodos de teste alternativos *in vitro* que são desenvolvidos para reduzir ou substituir o uso de animais são geralmente baseados em sistemas *in vitro* ou em modelos computacionais, que permitem uma análise abrangente do impacto de um produto químico a nível molecular e pode indicar possíveis vias de toxicidade que levam a efeitos adversos para a saúde.^[22]

Estes testes utilizam partes de células, células inteiras ou tecidos reconstruídos de culturas tridimensionais que mimetizam células e tecidos do corpo humano. As abordagens baseadas em computador, denominadas como métodos *in silico*, estão a tornar-se cada vez mais pertinentes e podem ser usadas para prever a toxicidade de um produto químico a partir das suas propriedades básicas. A sua relevância é igualmente importante como ferramenta para integrar informações toxicológicas derivadas de métodos complementares *in vitro* e *in silico*.^[20]

Vários métodos *in vitro* foram avaliados como alternativa ao teste *in vivo* pela ECVAM num estudo formal de validação a nível ocular e dérmico. A nível ocular nenhum teste de irritação *in vitro* único pode substituir o teste de Draize (*in vivo*) para prever toda a gama de irritações para diferentes classes químicas. No entanto, as combinações estratégicas de vários testes alternativos em conjunto podem substituir o teste *in vivo* para identificar possíveis substâncias corrosivas oculares e efeitos irritantes. A nível dérmico os modelos de epiderme humana reconstruída mimetizam as propriedades bioquímicas e fisiológicas das camadas externas da pele, ou seja a epiderme e a derme subjacentes. Este teste é validado como substituição completa do método *in vivo* de Draize. Irei salientar, a título de exemplo, os respetivos testes:^{[23] [24]}

Métodos <i>in vitro</i> para toxicidade ocular	I. Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP)
Métodos <i>in vitro</i> para toxicidade dérmica	II. EpiSkin

Métodos Alternativos In Vitro.

6.1 Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP)

O método de teste *BCOP* é um modelo organotípico que fornece a manutenção a curto prazo da função fisiológica e bioquímica da córnea isolada de bovinos acabados de abater. Cada grupo de tratamento (substância de teste, controlo negativo e positivo) consiste num mínimo de três olhos.

Os danos causados pelos efeitos tóxicos na córnea bovina isolada são avaliados por medidas quantitativas de opacidade e permeabilidade. A opacidade é medida quantitativamente, por um opacitómetro, como a quantidade de luz transmitida através da córnea. A permeabilidade é medida quantitativamente como a quantidade de fluoresceína de sódio que atravessa toda a espessura da córnea, espectrofotometricamente a 490 nm.

Ambas as medições são utilizadas para calcular uma pontuação de “*In Vitro Irritation Score*” (IVIS)*. Este valor de IVIS foi derivado empiricamente pelos investigadores, com base em resultados internos e outros estudos de desenvolvimento de ensaios. Uma substância que induz um IVIS $\geq 55,1$, é definida como irritante corrosivo ou severo. A classificação da pontuação de irritação *in vitro* (IVIS) é descrita na *tabela 3*.

* Pontuação de irritação *in vitro* (IVIS) = valor médio de opacidade + (15 x valor médio de permeabilidade).^{[25][26][27]}

Tabela 3. Classificação da pontuação de irritação *in vitro* (IVIS).

Irritação <i>in vitro</i> (pontuação)	Irritação <i>in vitro</i> (escala)
0-3	Não irritante
3.1-25	Fraco irritante
25.1-55	Médio irritante
≥ 55.1	Alto/Corrosivo irritante

A *figura 2* representa olhos de bovinos expostos ao método *BCOP* através dos testes de opacidade e de permeabilidade. As substâncias hidróxido de sódio (irritante forte), e acetona (irritante médio), indicam opacidade da córnea e a coloração com fluoresceína revela mudanças na permeabilidade. As micrografias histológicas mostram cortes corados com hematoxilina e eosina da camada epitelial da córnea com danos celulares e descolamento completo no caso da substância hidróxido de sódio. A solução salina não irritante e ácidos orgânicos não mostraram opacidade da córnea, nenhuma coloração com fluoresceína e nenhum dano nos tecidos revelados pela histologia.^[28]

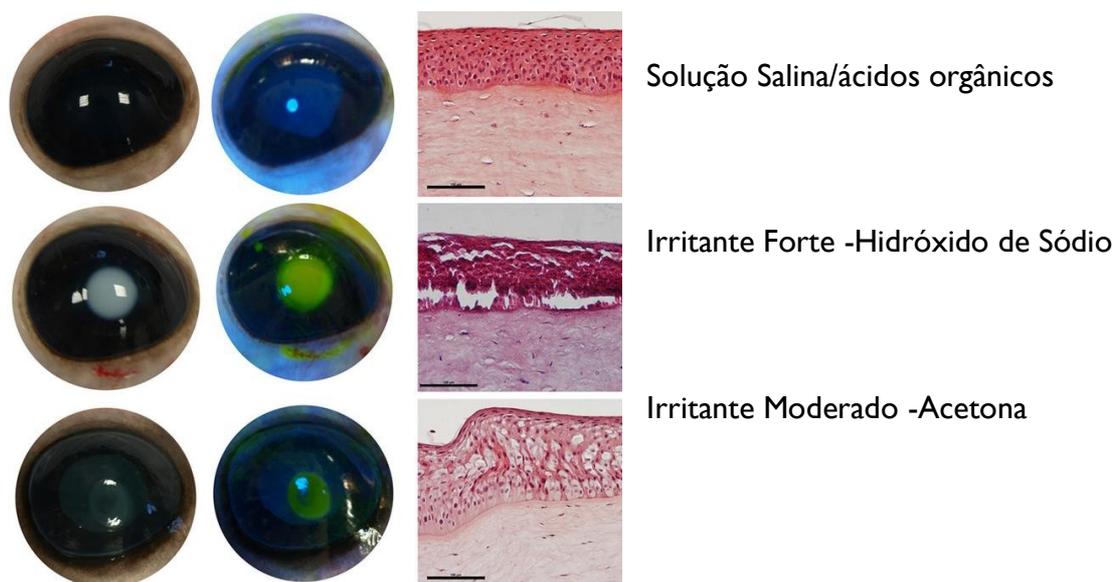


Figura 2. Olhos bovinos submetidos ao método de teste BCOP.^[28]

6.2 Episkin

O modelo de pele *Episkin* é comercialmente disponibilizado pela *Episkin SNC*, Lyon, França, uma empresa subsidiada pela L'Oréal e permite a identificação de substâncias e misturas químicas corrosivas e não corrosivas.^[24]

O modelo da epiderme diferenciado e estratificado compreende as principais camadas basal, supra-basal, espinhosa e granular. As células epidérmicas são retiradas de doadores voluntários saudáveis, negativos para anti-HIV 1 e 2, para a hepatite C, para anticorpos e para antigénios da hepatite B e de doadores de diferentes raças para produzir diversidade étnica nas amostras.^[29]

Este método alternativo utiliza o efeito citotóxico na epiderme humana reconstituída, para prever o potencial de corrosividade de um produto químico. Este efeito é avaliado pela diminuição da viabilidade celular, constatada pela redução do corante MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), solução de sal de tetrazólio, insolúvel em água.^{[20][30]}

Tal como é exemplificado na *figura 3* as células adultas são cultivadas e adicionadas a uma camada de gel de colagénio. Durante 3 dias a amostra fica completamente imersa num meio com água, açúcar e aminoácidos, para que seja proporcionado o crescimento celular. Nos 10 dias seguintes à imersão, a superfície da pele é exposta ao ar permitindo que seque e crie camadas mais fortes. Caso seja necessário, é possível incidir luz UV para que a pele

“envelheça”. A pele fica então pronta para ser testada com ingredientes teste. As substâncias são aplicadas ao estrato córneo do modelo epidérmico para três períodos de exposição diferentes: 3 minutos, 60 minutos e 240 minutos.^[29]

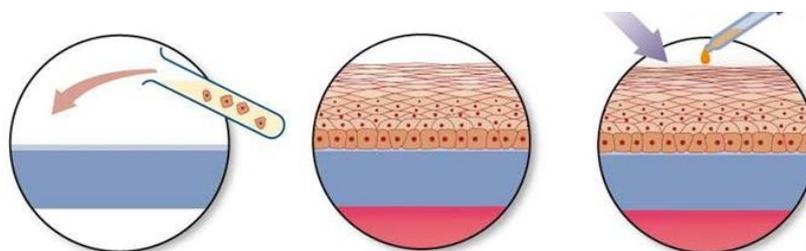


Figura 3. Ilustração do método Episkin.^[31]

Os tecidos são incubados durante 3 horas \pm 5 minutos a 37°C protegidos da luz, com a solução de sal de tetrazólio (MTT). Este, por sua vez, é reduzido pela enzima succinato desidrogenase a um precipitado de formazan azul nas mitocôndrias das células vivas (Figura 4). A viabilidade da epiderme é avaliada pela medição da atividade mitocondrial, ou seja, se a cor da solução ficar azul ou roxa a substância interage com o MTT (Figura 5).^{[29][30]}

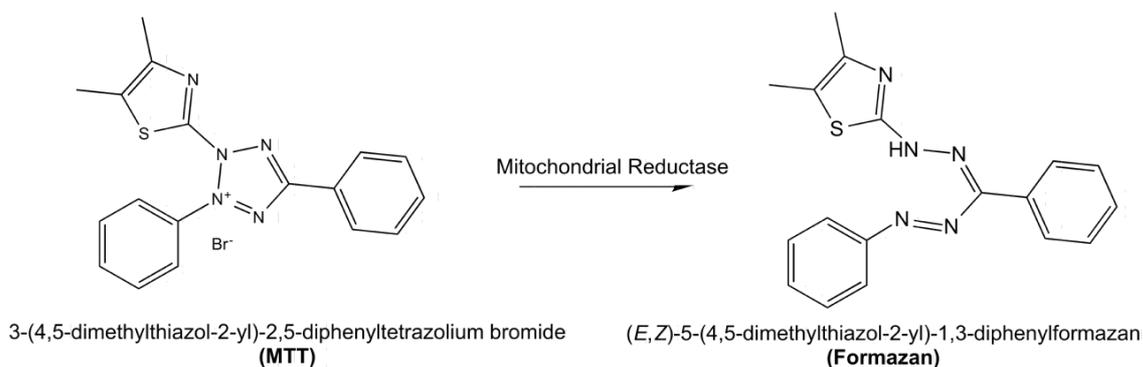


Figura 4. Redução do MTT pela enzima succinato desidrogenase a um precipitado de formazan azul.^[32]

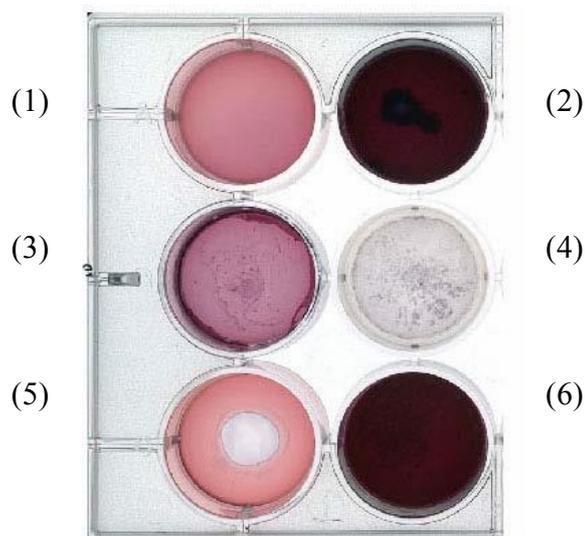


Figura 5. Exemplo com substâncias teste para redução direta com MTT. As substâncias de teste (2) (3) e (6) reduziram diretamente o MTT.^[33]

O formazan precipitado é extraído usando o isopropanol acidificado e é então quantificado espectrofotometricamente a um comprimento de onda entre 545 e 595 nm. Soluções de NaCl e de ácido acético glacial são utilizadas como controlos negativos e positivos, respetivamente. A diminuição da viabilidade nos tecidos tratados é expressa comparativamente aos controlos negativos, em percentagem de viabilidade (%), para prever e classificar o potencial de corrosão da pele.

A diminuição de 35% de viabilidade celular é utilizada para indicar um potencial de corrosividade humana, como ponto de partida para a classificação da substância teste tal como indica a tabela 4.^[29]

Tabela 4. Classificação da substância teste de acordo com a % de viabilidade celular.^[29]

Classificação	Interpretação <i>in vitro</i>
Corrosivo (forte)	Se viabilidade <35% após 3 min de exposição
Corrosivo (médio) e (fraco)	Se viabilidade ≥35% após 3 min e <35% após 1 hora de exposição ou se viabilidade ≥ 35% após 1 hora e <35% após 4 horas de exposição
Não corrosivo	Se viabilidade ≥35% após 4 horas de exposição

7. Considerações Finais

Ao refletir sobre o que foi enunciado neste trabalho, posso constatar algumas conclusões.

Nomeadamente, relativamente à definição de produto cosmético referida na introdução, este deverá atuar ao nível das camadas superiores da epiderme. No entanto, à luz da crescente biotecnologia atualmente disponibilizada à indústria, como técnicas de microencapsulação de ingredientes para que possam penetrar mais eficazmente na pele, esta definição torna-se obsoleta, pois pretende-se que os ingredientes atinjam a derme e muitas vezes a hipoderme. Deste modo, a meu ver, as exigências de qualidade, segurança e eficácia destes produtos deveriam ser melhoradas.

No que diz respeito ao enquadramento regulamentar dos produtos cosméticos, penso que os produtos que se incluem numa classe de risco superior, deveriam ser legislados para que fossem submetidos a uma autorização administrativa prévia à introdução no mercado.

Apesar da Autoridade Competente ter um papel fundamental na supervisão destes produtos, através da monitorização do mercado, cabe à sociedade depositar grande parte da sua confiança nos fabricantes e nos peritos de toxicologia incorporados na equipa de produção de cada produto. Tal como eu, outros consumidores destes produtos deviam tomar consciência, através de uma maior informação e transparência dos diferentes tipos de risco que estão em causa.

Deparei-me também com o facto de, a nível mundial, a Europa manter a posição mais estrita em relação ao uso de animais em testes de avaliação toxicológica de produtos cosméticos, elegendo os métodos *in vitro* alternativos como testes preferenciais. Vários países, como por exemplo a China, exigem explicitamente dados de testes toxicológicos em animais para posteriormente colocarem estes produtos no mercado. É certo que ainda existem algumas limitações mas é concebível que, a maioria dos testes de segurança possam ser feitos através da combinação inteligente de métodos de teste não animal, modelos de computador e abordagens integrativas.

Orgulhosamente, a indústria farmacêutica tem sido o principal motor para os vários progressos dos últimos anos no que se refere ao desenvolvimento de métodos alternativos, especialmente no campo da toxicidade e segurança de produtos químicos e biológicos, contribuindo para o bem-estar da sociedade e dos animais.

Referências Bibliográficas

- [1] A. Kerdudo *et al.*, “Développement d’un ingrédient naturel: Étude de cas d’un conservateur naturel,” *Comptes Rendus Chim.*, 2016, vol. 19, no. 9, pp. 1077–1089.
- [2] União Europeia, “Regulamento (CE) N.º 1223/2009 Do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de Novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos (reformulação),” *J. Of. da União Eur.*, 2009, p. 151.
- [3] O. On *et al.*, “Guidance Document on the demarcation between the Cosmetic Products Directive 76/768 and the Medical Products Directive 2001/83 as agreed between the Comission Services and the Competent Authorities of Member States,” 2015.
- [4] I.-G. J. e Contencioso, “Deliberação n.º 675/2013, de 13 de fevereiro (DR, 2.ª série, n.º 43, de 1 de março de 2013),” pp. 2–4.
- [5] Diário da República, “Diário da República, 1.ª série - N.º 205 - 21 de Outubro de 2010,” pp. 4679–4727.
- [6] Parlamento Europeu, “Diretiva 2001/95/CE Do Parlamento Europeu e do Conselho de 3 de Dezembro de 2001 relativa à segurança geral dos produtos,” *J. Of. das Comunidades Eur.*, 2002, no. 7, pp. 4–17.
- [7] Diário da República, “Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro Diário da República, 1.ª série - N.º 185 - 24 de Setembro de 2008,” *Diário da República*, 2015, 2.ª série - n.º 45, pp. 1–15.
- [8] C. Europeia, “Regulamento (UE) 2017/2228 Da Comissão de 4 de dezembro de 2017 que altera o anexo III do Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos produtos cosméticos,” 2016vol. 2017, no. 8, pp. 2015–2017.
- [9] União Europeia, “Regulamento (UE) 2017/1410 da Comissão de 2 de agosto de 2017 que altera os anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos produtos cosméticos,” 2013, *J. Of. da União Eur.*, vol. 52, no. L 241, p. 60.
- [10] P. Regulamento, “Regulamento (UE) 2017/1224 Da Comissão de 6 de julho de 2017 que altera o anexo V do Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos produtos cosméticos,” 2016, vol. 15, no. submissão III, pp. 2015–2017.
- [11] N. Dayan, “Pathways for Skin Penetration,” *Cosmet. Toilet.*, 2005, vol. 120, no. 6, pp. 67–76.

- [12] J. R. Young, M. J. How, A. P. Walker, and W. M. H. Worth, "Classification as corrosive or irritant to skin of preparations containing acidic or alkaline substances, without testing on animals," *Toxicol. Vitr.*, 1988, vol. 2, no. 1, pp. 19–26.
- [13] R. S. Rashid and T. N. Shim, "Contact dermatitis," *Bmj*, vol. 3299, 2016, .no. June, pp. 3299.
- [14] S. Singh and B. S. N. Reddy, "Cosmetic dermatitis - Current perspectives," *Int. J. Dermatol.*, 2003, vol. 42, no. 7, pp. 533–542.
- [15] C. Informativa, "Circular Informativa N.º 098/2008/CD," 2008, pp. 1–2,.
- [16] P. Das and T. D. E. Henna, "Tatuagens de Henna Negra #46/Abril/Maio 12."
- [17] INFARMED I.P., "Circular Informativa N.º 027/CA," 2003, *Conv. sobre Segur. Nucl.*, vol. 349, pp. 8–10.
- [18] T. Hanslik and J. Prinseau, "The use of vitamin K in patients on anticoagulant therapy: a practical guide.," *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, 2004, vol. 4, no. 1, pp. 43–55.
- [19] P. Nicolopoulou-Stamati, L. Hens, and A. J. Sasco, "Cosmetics as endocrine disruptors: are they a health risk?," *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2015, vol. 16, no. 4, pp. 373–383.
- [20] M. Lee, J. Hwang, and K. Lim, "Alternatives to In Vivo Draize Rabbit Eye and Skin Irritation Tests with a Focus on 3D Reconstructed Human Cornea-Like Epithelium and Epidermis Models," 2017, vol. 33, no. 3, pp. 191–203.
- [21] D. M. Ibrahim, "Reduce, Refine, Replace: The Failure of the Three R's and the Future of Animal Experimentation," *Univ. Chic. Leg. Forum*, 2006, vol no. 1, p. 195.
- [22] V. Zuang et al., *EURL ECVAM progress report on the development, validation and regulatory acceptance of alternative methods (2010-2013)*.
- [23] S. K. Schmidt and A. Wonka, "ECVAM Retrospective Validation Study on Cytotoxicity cell-function based in vitro assays for the prediction of eye irritation," 2012, no. June, pp. 1–14.
- [24] A. Almeida, B. Sarmiento, and F. Rodrigues, "Insights on in vitro models for safety and toxicity assessment of cosmetic ingredients," *Int. J. Pharm.*, vol. 519, 2017, no. 1–2, pp. 178–185.
- [25] D. S. Silva, Odile de, Jan van der Valk, Manfred Liebsch, Jon Richmond, "ESAC Shadow Review - Organotypic in vitro assays as screening tests to identify potential ocular corrosives and severe irritants as determined by US EPA, EU (R41) and UN GHS classifications in a tiered testing strategy, as part of a weight of evidence app," 2007 no. November 2006, pp. 1–26.

- [26] OECD guideline, “DB-ALM Protocol n ° 127: Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Assay,” 2009, no. 437, pp. 1–13.
- [27] The European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing (EURL-ECVAM), “Oecd Guideline for the Testing of Chemicals,” *Eur. Union Ref. Lab. Altern. to Anim. Test. (EURL-ECVAM)*, vol. 124, no. January, pp. 1–4.
- [28] C. P. Churchward, R. G. Alany, R. S. Kirk, A. J. Walker, and L. A. S. Snyder, “Prevention of ophthalmia neonatorum caused by *Neisseria gonorrhoeae* using a fatty acid-based formulation,” *MBio*, vol. 8, no. 4, 2017.
- [29] ECVAM DBALM, “INVITTOX Protocol No . 118 EPISKIN™ Skin Corrosivity Test,” no. 118.
- [30] N. Alépée, J. Hibatallah, M. Klaric, K. R. Mewes, U. Pfannenbecker, and P. McNamee, “Assessment of cosmetic ingredients in the in vitro reconstructed human epidermis test method EpiSkin™ using HPLC/UPLC-spectrophotometry in the MTT-reduction assay,” *Toxicol. Vitr.*, vol. 33, 2016, pp. 105–117.
- [31] “Visite des laboratoires L’Oréal Episkin - Paperblog.”
- [32] D. E. P. P. E. Pidlá-co-tmc et al., “Viabilidade Celular,” pp. 12–15.
- [33] S. C. Test, *MatTek Corporation Protocol for: Protocol for: In vitro EpiDerm™ Skin Corrosion Test (EPI-200-SCT)*. 2012.